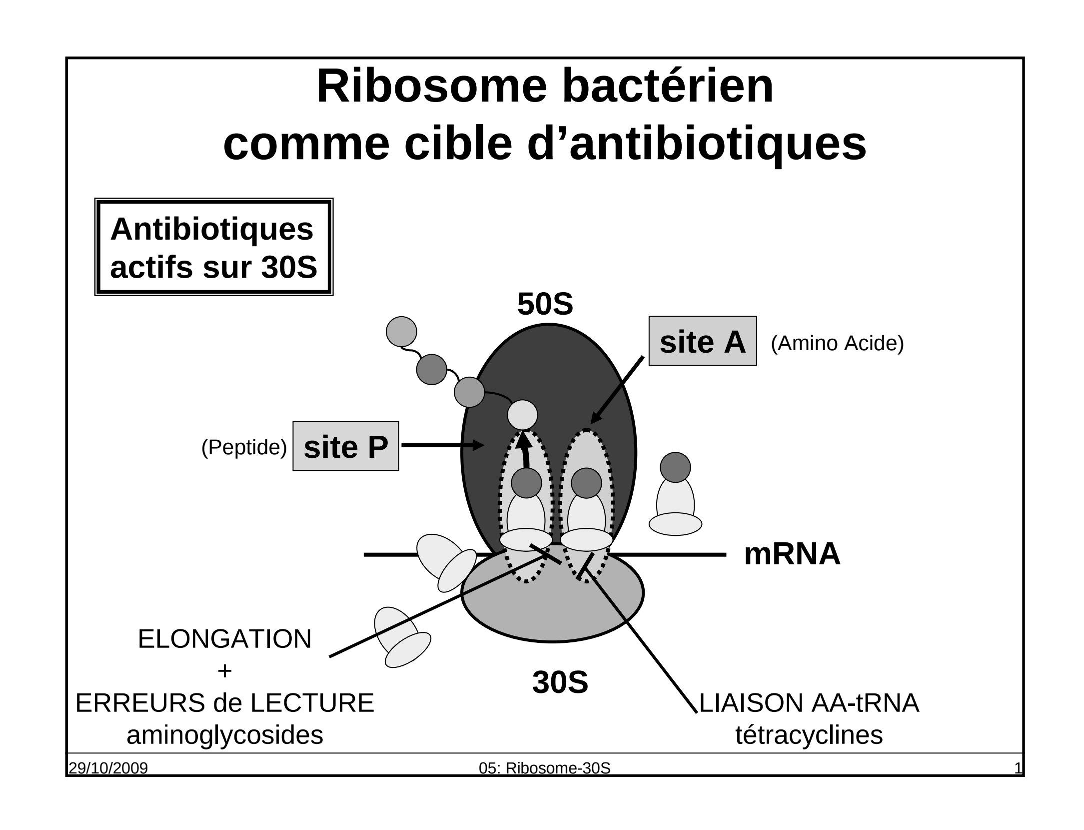
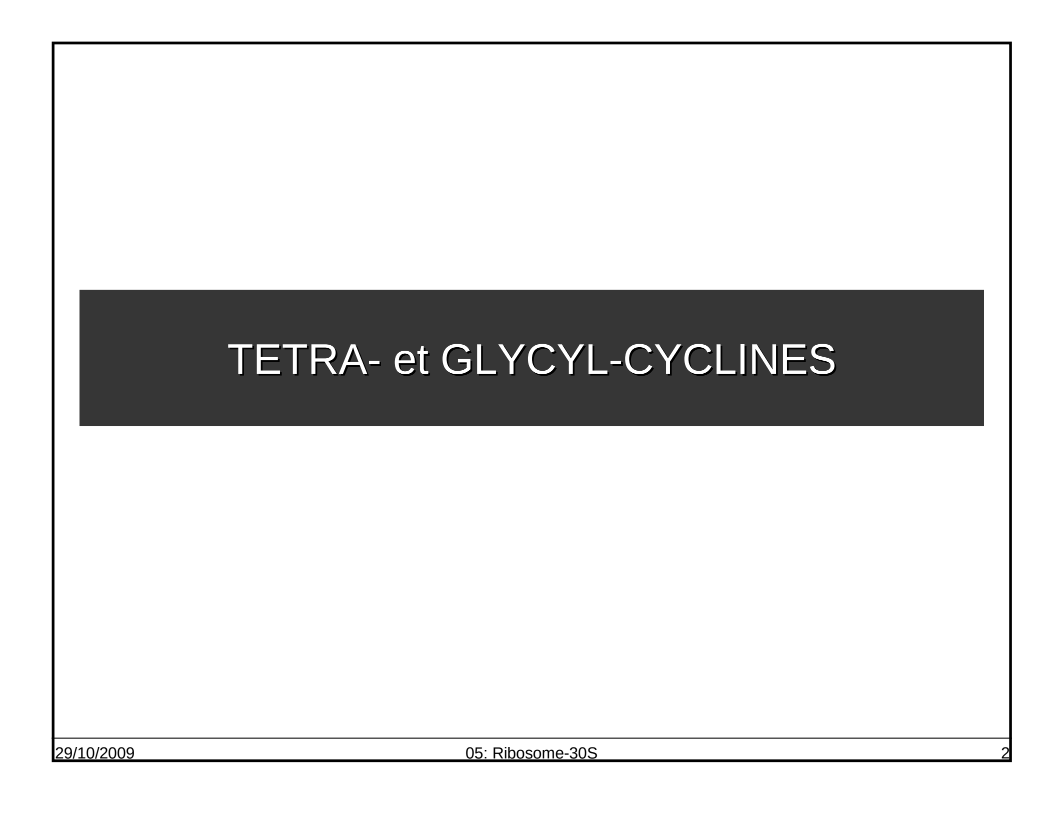
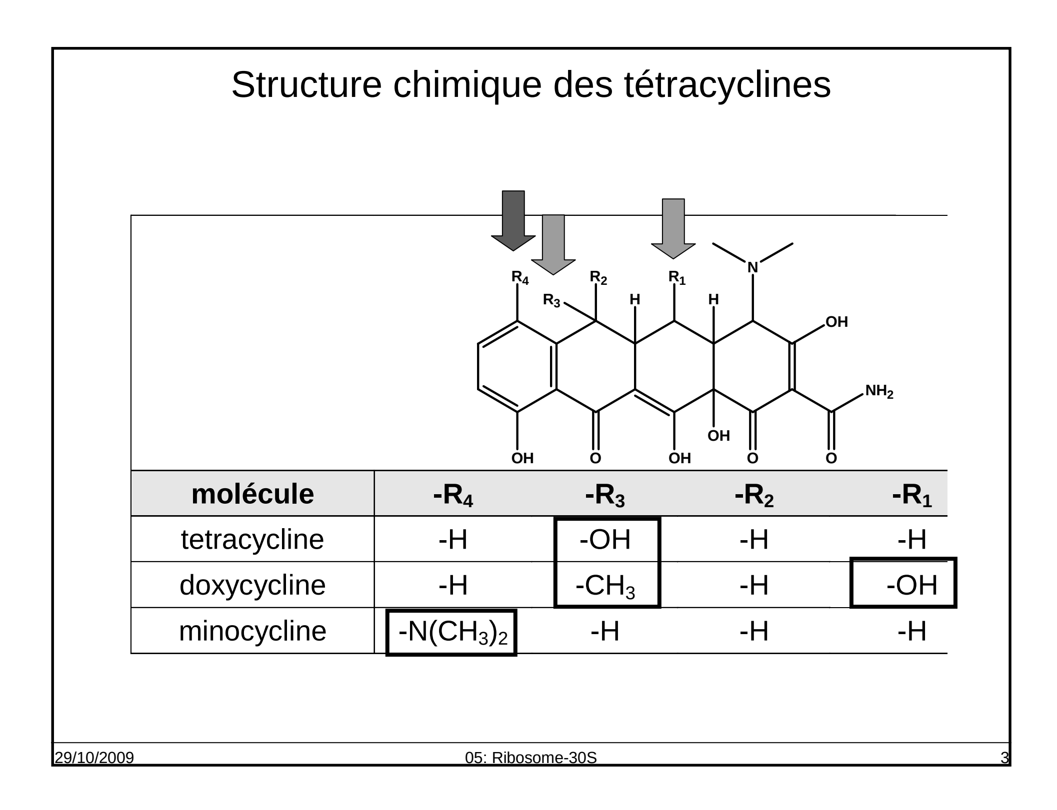

Ribosome bactérien
comme cible d'antibiotiques
Antibiotiques
actifs sur 30S
50S
site A
(Amino Acide)
(Peptide)
site P
mRNA
ELONGATION
+
ERREURS de LECTURE
aminoglycosides
30S
LIAISON AA-tRNA
tétracyclines
29/10/2009
05: Ribosome-30S
1

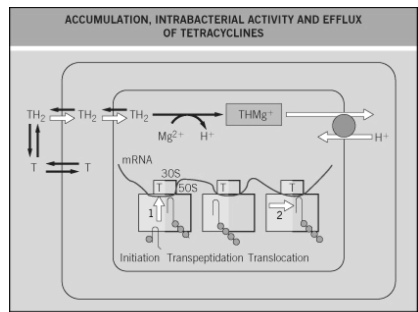

TETRA- et GLYCYL-CYCLINES
29/10/2009
05: Ribosome-30S
2



Structure chimique des tétracyclines

molécule	$-R_4$	$-R_3$	$-R_2$	$-R_1$
tetracycline	-H	-OH	-H	-H
doxycycline	-H	$-CH_3$	-H	-OH
minocycline	$-N(CH_3)_2$	-H	-H	-H

Mode d'action



© Elsevier 2004. Infectious Diseases 2e - www.idreference.com

- pénétration dans la bactérie
- piégeage sous forme de sel de Mg^{2+} (substrat des pompes à efflux)
- inhibition de la synthèse protéique
  - liaison à l'unité 30S
  - prévention de l'accès du AA-tRNA au site A

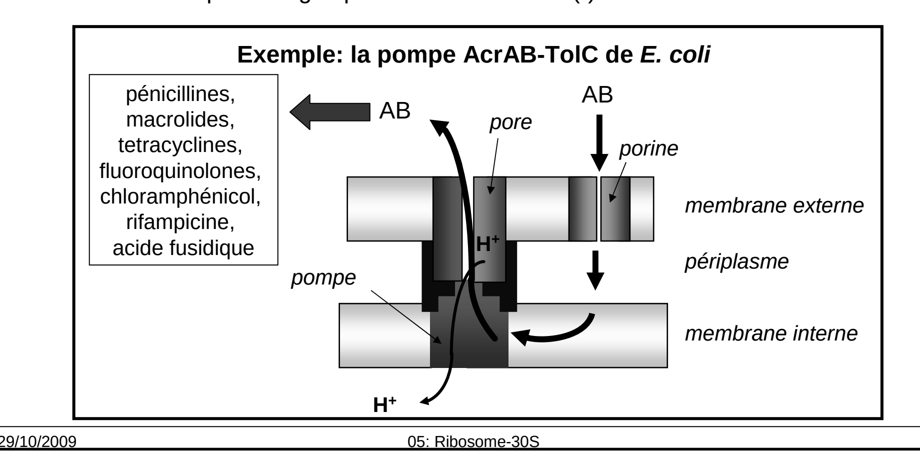
Action peu spécifique
Capacité d'interaction également avec les ribosomes de parasites et de cellules eucaryotes dans une moindre mesure

Mécanismes de résistance

• défaut de concentration dans la bactérie

  • diminution de l'activité du transporteur d'entrée
  • efflux actif

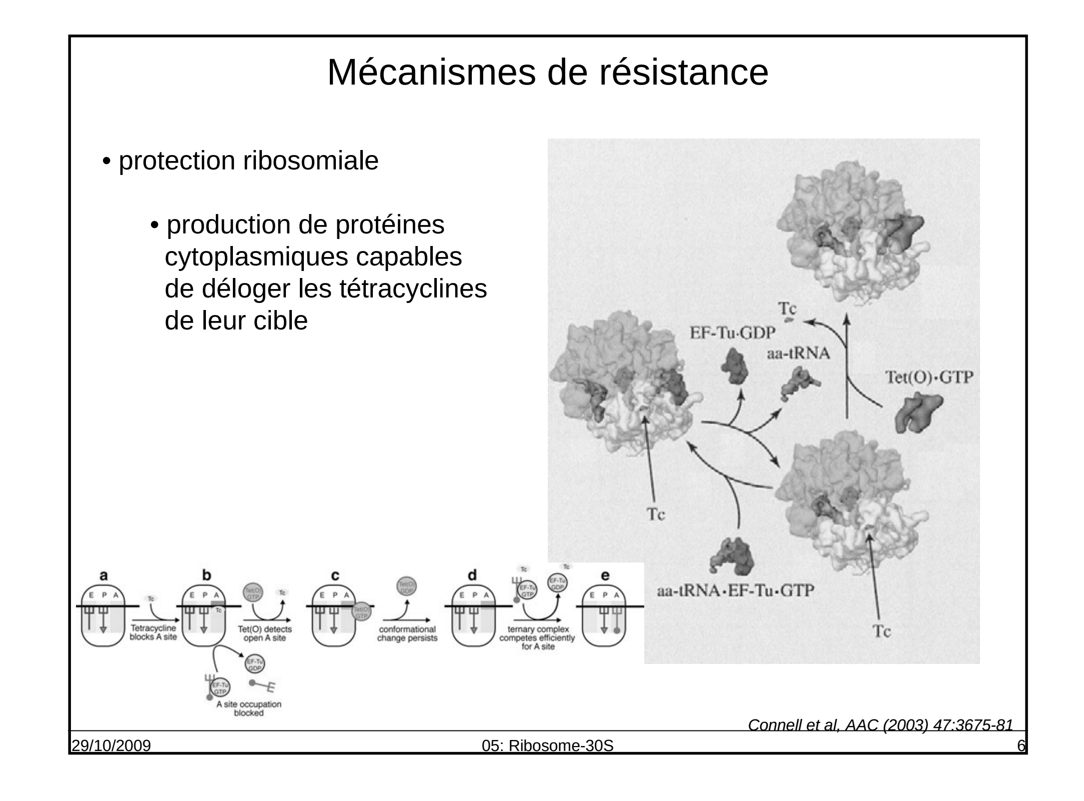
    ➢ Pompes Tet à tétracyclines chez les Gram(+) et les Gram(-)
    ➢ Pompes à large spectre chez les Gram(-): Résistances croisées



Mécanismes de résistance

• protection ribosomiale

  • production de protéines cytoplasmiques capables de déloger les tétracyclines de leur cible



Connell et al, AAC (2003) 47:3675-81

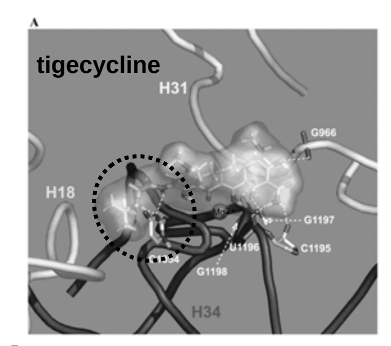
Et les glycylcylines ?

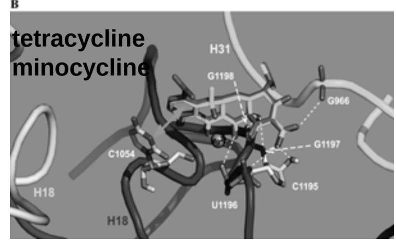
tigécycline

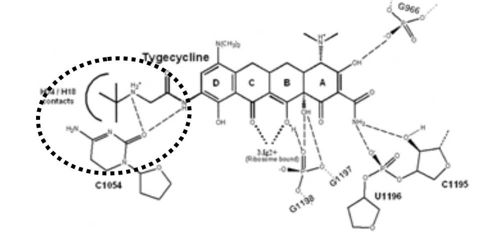
minocycline

glycyl-

glycylcylines : action et résistance

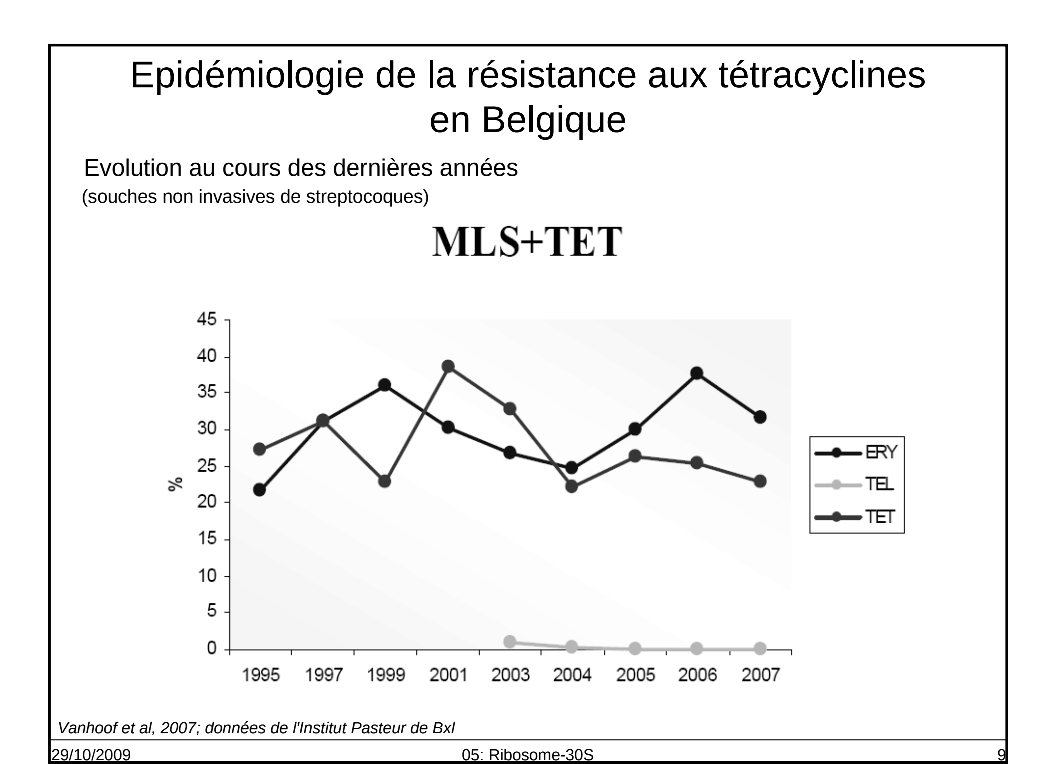






- Même site de liaison que les tétracyclines (16S RNA du ribosome) mais site d'interaction supplémentaire
- Non affecté par la résistance due à
  - protection ribosomale
  - pompes à efflux spécifiques aux tétracyclines (Tet), mais reste sensible aux pompes à efflux large spectre (MexXY de *P. aeruginosa*)

Olson *et al.,* AAC (2006) 50:2156-66



Spectre d'activité et indications

- tétracyclines: spectre extrêmement large
  - Gram-positifs, Gram négatifs, intracellulaires, anaérobes
  - Activité intrinsèque minocycline et doxycycline >> tétracycline

Usage inconsidéré, la plupart des bactéries sont devenues résistantes …
Quelques indications marginales restent acceptables :

infections de la peau et des tissus mous:
- acné : *Propionibacterium acnes*
- maladie de Lyme : *Borrelia burgdorferi*

infections respiratoires à germes intracellulaires :
- *Chlamydia, Mycoplasma*

infections génitales :
- *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrheae, Treponema pallidum* (syphilis)

Infections particulières
- *Rickettsia, amibes*

Spectre d'activité et indications



- glycylcyclines: spectre très large
  - Bactéries à Gram-positif,
    - et Gram-négatif sauf *Pseudomonas aeruginosa*
      - (résistance intrinsèque par efflux actif),
  - anaérobes

Indications limitées pour éviter l'émergence de résistance;
intérêt dans les infections polymicrobiennes :

infections compliquées de la peau et des tissus mous [Gram(+)]:
S. aureus multirésistant, Streptocoques*, B. fragilis* , …

infections intra-abdominales [Gram(-)]: :
E. coli, Klebsiella, *Enterobacter*, entérocoques, *B. fragilis*, …

Pharmacocinétique



- Absorption
  - bonne biodisponibilité orale
  - MAIS fomation de complexes non résorbés avec les ions bivalents
  - tigecycline disponible uniquement sous forme injectable (limitation au milieu hospitalier)

Interaction avec aliments et médicaments

- Distribution
  - distribution large, sauf sans le SNC
  - accumulation cellulaire
  - fixation aux os et aux dents

indications intracell.

effets secondaires

- Elimination
  - métabolisme hépatique partiel
  - élimination rénale pour la tigecycline
  - $t_{1/2}$ environ 20h mino, doxy, tige

Interactions médic. via CYP450

administration 1X/jour

Tétra- et glycyl-cyclines: pharmacocinétique et posologie

	dose *po*	**pic sérique (mg/l)**	**absorption (% de la dose)**	**liaison prot. (%)**	**$t_{1/2}$ (h)**
oxytétracycline	250–500 mg 4x/jour	0.9	58	35	10
tétracycline	250–500 mg 4x/jour	2.2	77	65	6-8
minocycline	100-200 mg 1x/jour ou 100 mg 2x/jour	2.5	95	76	15
doxycycline	100-200 mg 1x/jour ou 100 mg 2x/jour	2.5	93	93	15-20
tigécycline	100 mg 1x/jour (IV)	1-1.5	--	70-90	27

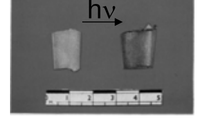
Effets secondaires



• effet photosensibilisant



• fixation aux os et aux dents (coloration jaune)
→ contre-indiqué chez les enfants
et les femmes enceintes



J Clin Pathol. (1962) 15:112–115.

• adhérence oesophagienne et ulcération
→ administration en position assise avec un grand verre d'eau

• rarement, toxicité hépatique ou rénale

• thrombophlébite lors de l'injection intra-veineuse



Interactions médicamenteuses

• Formation de complexes non résorbés avec les ions bi- ou tri-valents (calcium, magnésium, fer, zinc, bismuth)



Prendre à distance des aliments ou médicaments qui en contiennent

Quelques exemples :
antacides, sucralfate, didanosine, multivitamines…

• métabolisme accru en présence d'inducteurs hépatiques

Quelques exemples :
carbamazépine, phénytoïne

• risque d'hémorragie avec les anticoagulants oraux (réduction de la production de VitK par flore digestive)

• perte d'efficacité des contraceptifs oraux (réduction du métabolisme intestinal des conjugués aux oestrogènes)

Conseils pharmacothérapeutiques lors de la délivrance d'une tétracycline

Dr A. Dupont
Madame A.B.
R/ doxycycline
dt 1 bte 10 co 100 mg
S/ 1 co 2X/jour
Dr A. Dupont
Av. Mounier 1
1200 Bruxelles
02/771.00.00
OM 3456
20/08/2008
20/08/2008
PRESCRIPTION DE MEDICAMENTS

Prescription chez une femme de 25 ans
Indication potentielle: infection gonococcique

prise d'autres médicaments ?
contraceptifs ?
compléments alimentaires ?

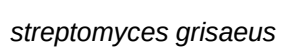
matin et soir, avant le repas
avec un grand verre d'eau
en position assise

pas d'exposition au soleil

AMINOGLYCOSIDES

La streptomycine: découverte par S. Waksman en 1943 par criblage systématique…





streptomyces grisaeus



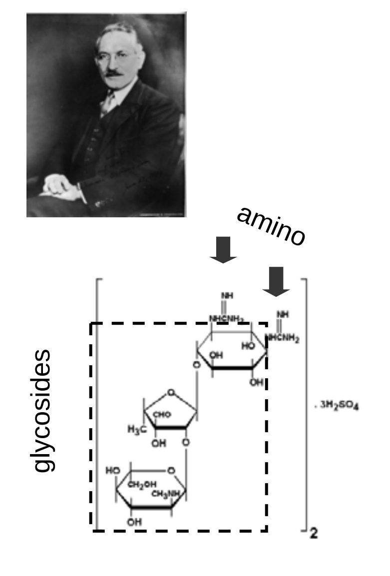
Waksman and Fleming …



From the point of view of human benefit, never was a Nobel prize so justifiably awarded as was the award to Selman Waksman for the discovery of streptomycin and other antibiotics produced from *Streptomyces spp*. Waksman and his talented team (many of whom went on to make important antibiotic discoveries in their own right) developed the concept of **systematic screening** of microbial culture products for biological activity, a technology which has provided the foundation of the antibiotic industry, and for this alone his name should rank high in any pantheon of microbiology.

J. Davies: In Praise of Antibiotics, ASM News
http://www.asm.org/memonly/asmnews/may99/feature6.html

Streptomycine: propriétés générales



- spectre large incluant les Gram (+) et les Gram (-) et le bacille de la tuberculose
- agit en se liant à l'unité 30 S du ribosome et inhibe la synthèse protéique tout en causant des erreurs de lecture de de l'ARNm, donnant naissance à des protéines anormales et/ou tronquées
- fortement bactéricide de façon concentration-dépendante
- mais a donné lieu rapidement à des émergences de résistance (principalement par mutation ribosomiale) et cause de l'ototoxicité (dihydrostreptomycine surtout)
- utilisée rarement aujourd'hui sauf pour la tuberculose, la tularémie, la peste, et certaines endocardites

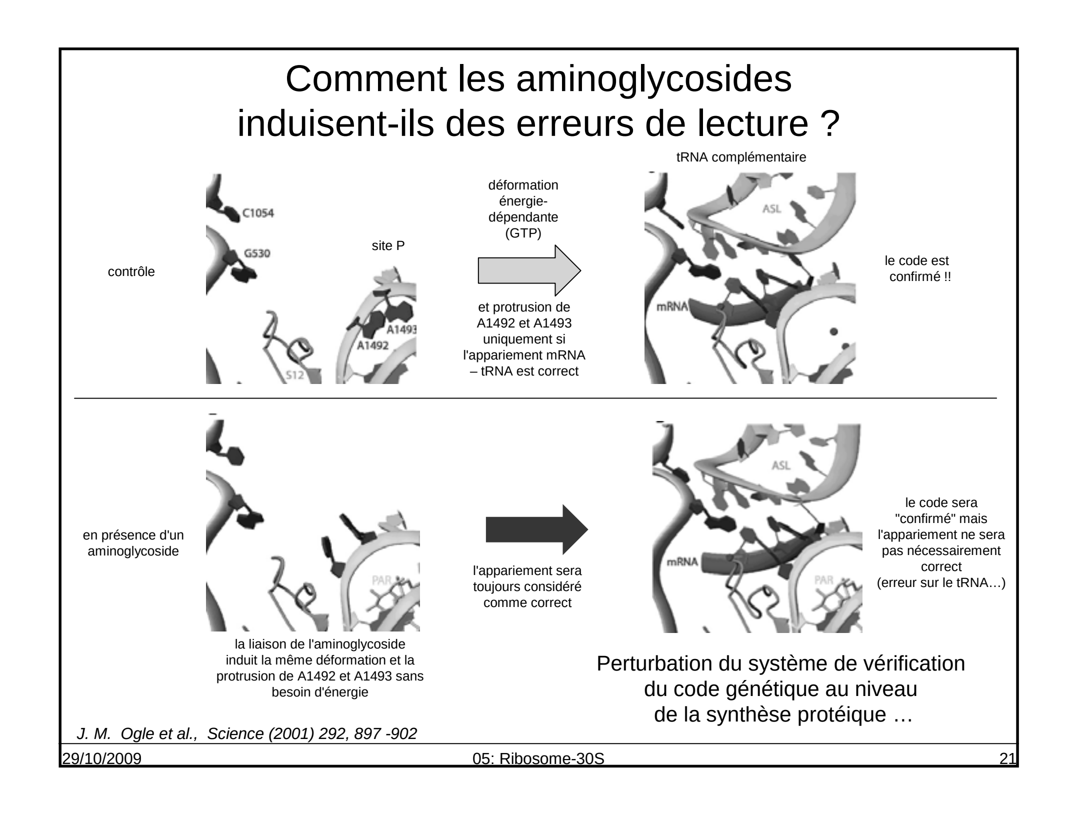
Mode d'action

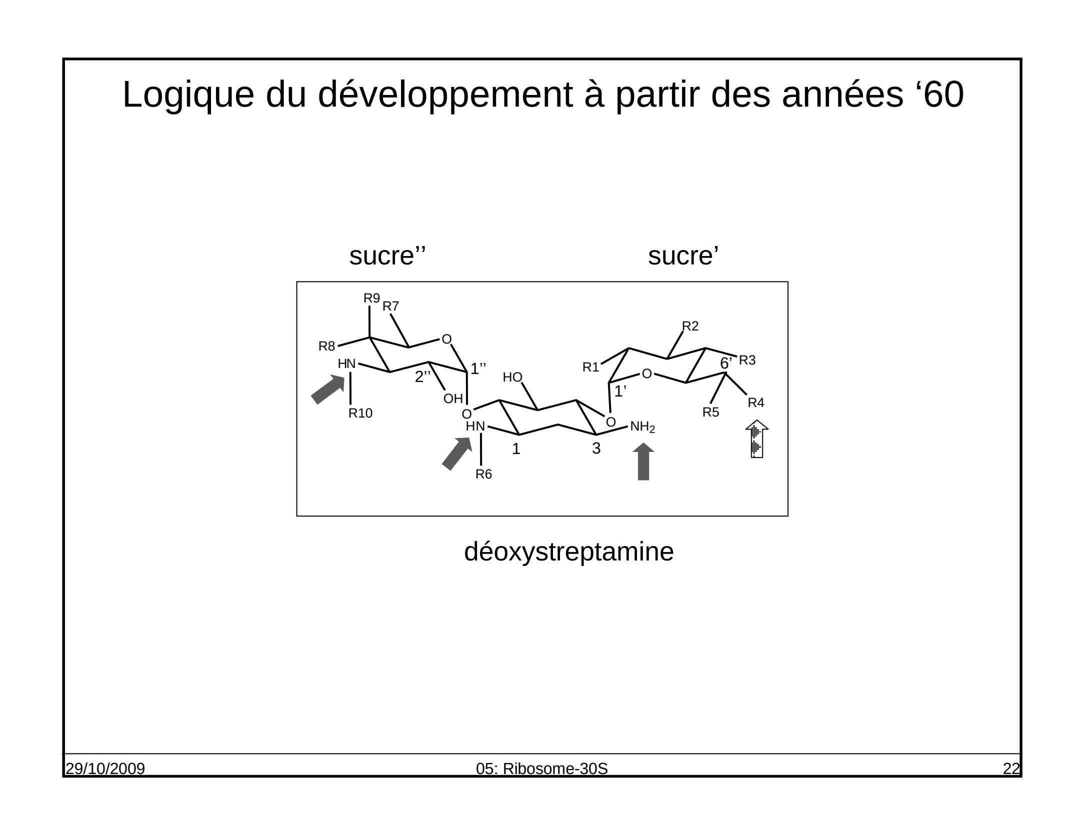
mature protein
growing polypeptide
50S
30S
5' AUG 3'
A
B
C
direction of mRNA translation
+ aminoglycoside ●
blocks initiation of protein synthesis
blocks further translation and elicits premature termination
incorporation of incorrect amino acid

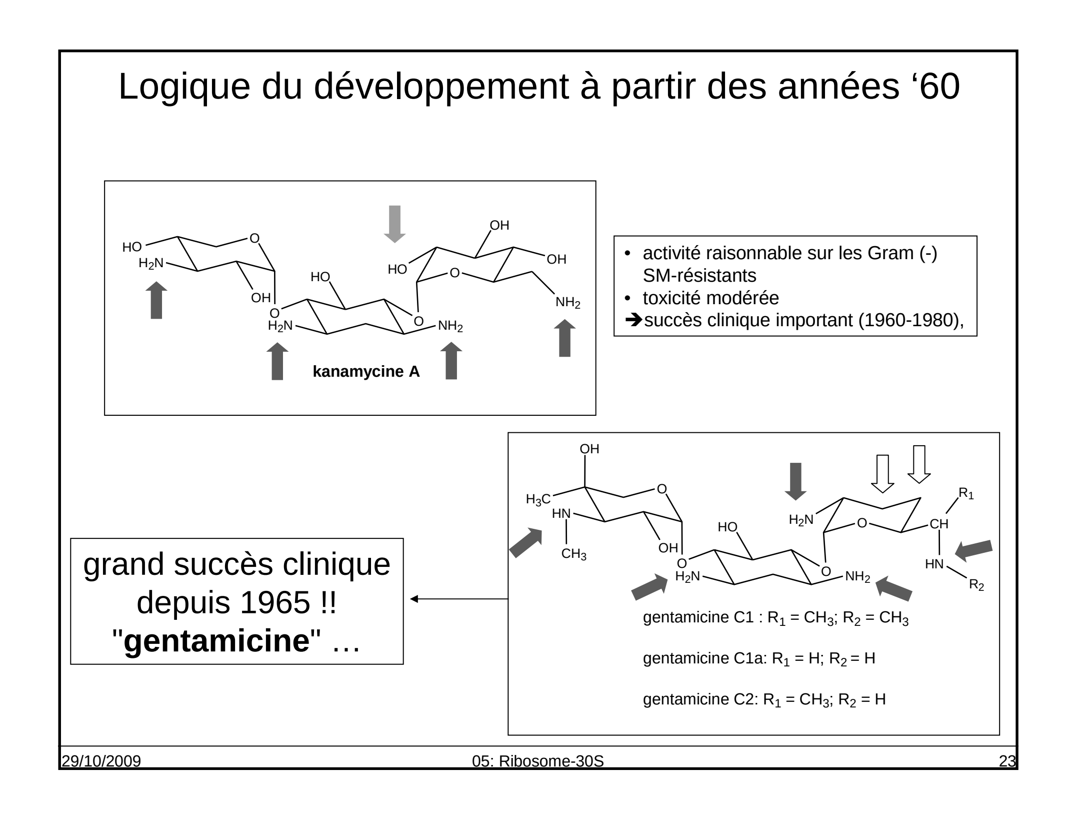
Effects of aminoglycosides on protein synthesis.

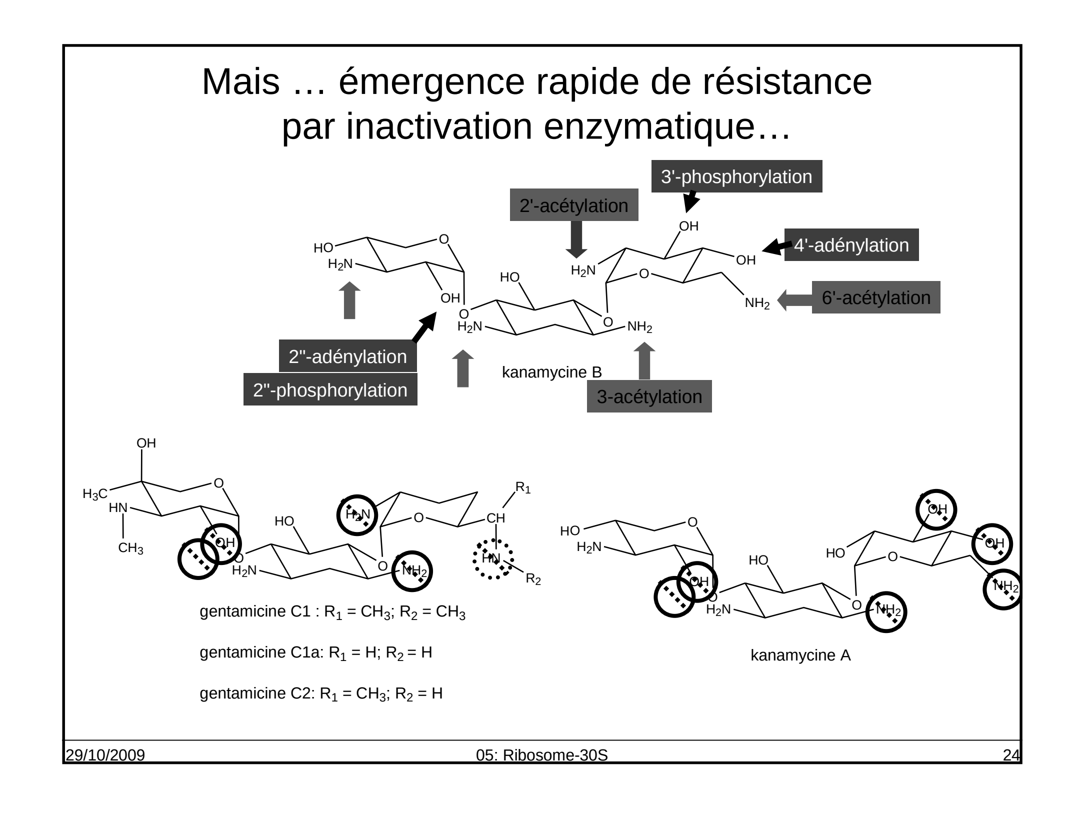
A. Aminoglycoside (represented by closed circles) binds to the 30 S ribosomal subunit and interferes with initiation of protein synthesis by fixing the 30 S–50 S ribosomal complex at the start codon (AUG) of mRNA. As 30 S–50 S complexes downstream complete translation of mRNA and detach, the abnormal initiation complexes, so-called streptomycin monosomes, accumulate, blocking further translation of message. Aminoglycoside binding to the 30 S subunit also causes misreading of mRNA, leading to ***B.*** premature termination of translation with detachment of the ribosomal complex and incompletely synthesized protein, or ***C.*** incorporation of incorrect amino acids (indicated by the "X"), resulting in the production of abnormal or nonfunctional proteins.

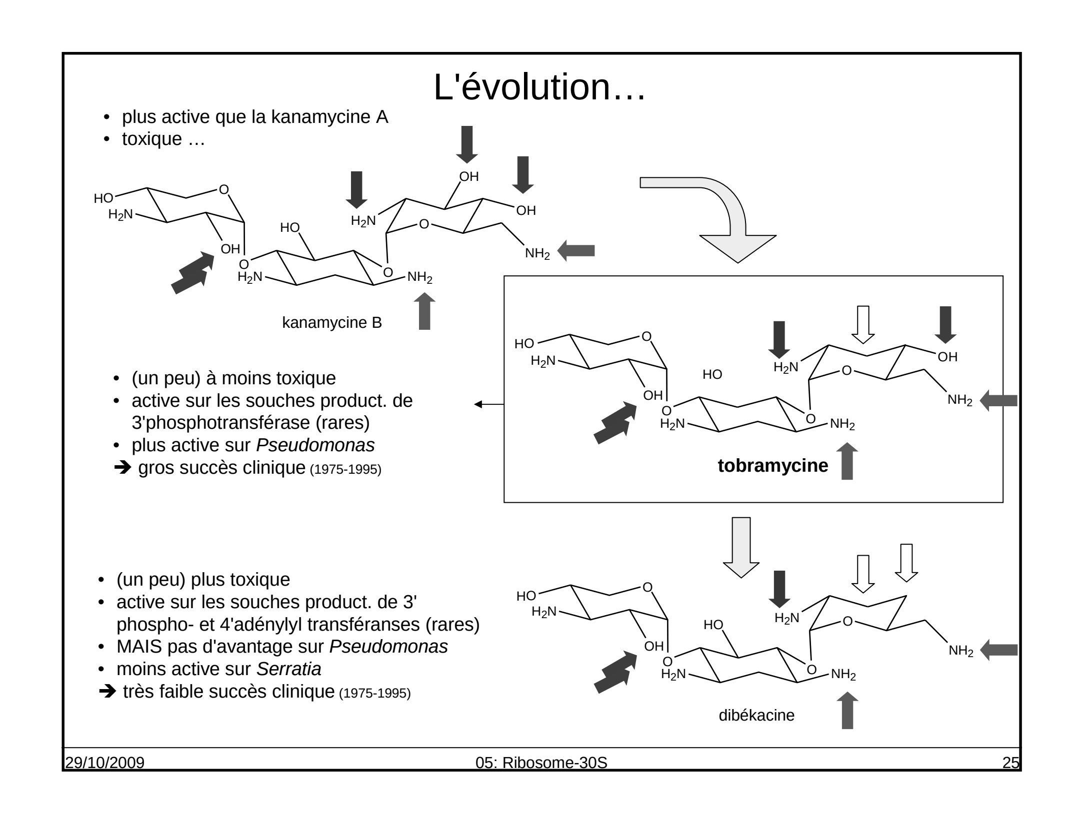
Goodman & Gilman's, 10th ed. p 1222

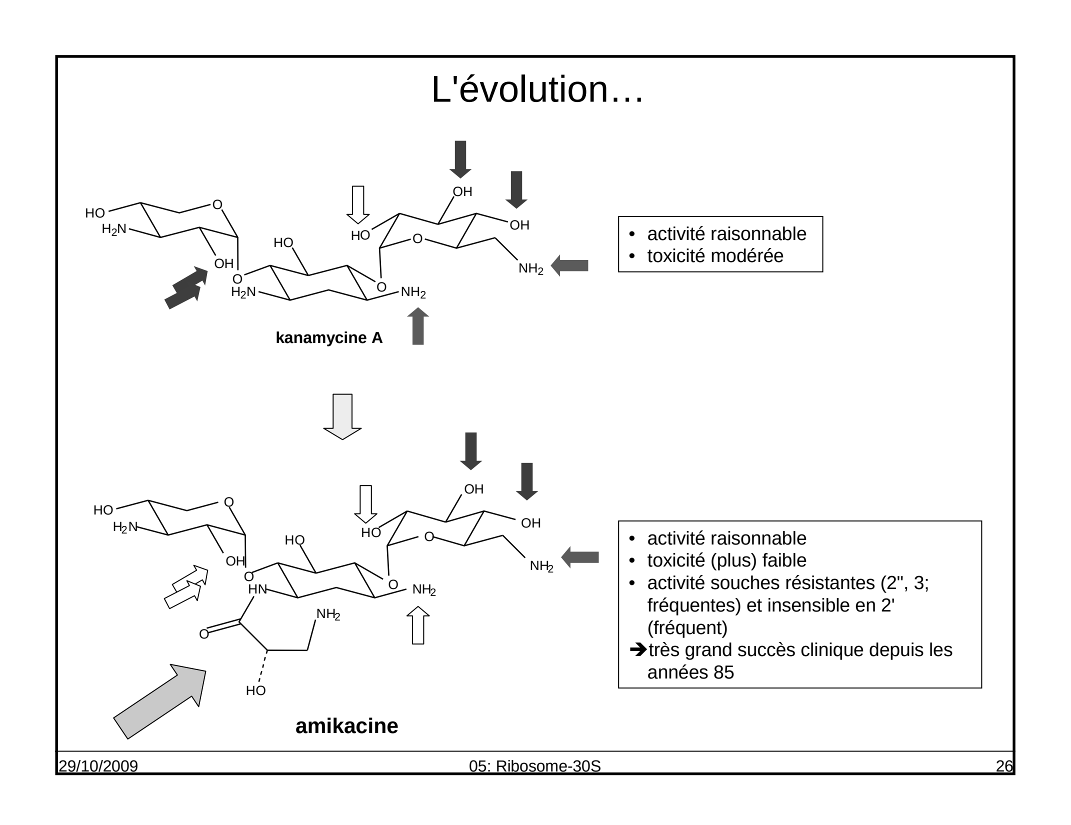

Comment les aminoglycosides
induisent-ils des erreurs de lecture ?
tRNA complémentaire
contrôle
C1054
G530
site P
A1493
A1492
S12
déformation
énergie-
dépendante
(GTP)
et protrusion de
A1492 et A1493
uniquement si
l'appariement mRNA
– tRNA est correct
ASL
mRNA
le code est
confirmé !!
en présence d'un
aminoglycoside
PAR
l'appariement sera
toujours considéré
comme correct
le code sera
"confirmé" mais
l'appariement ne sera
pas nécessairement
correct
(erreur sur le tRNA…)
la liaison de l'aminoglycoside
induit la même déformation et la
protrusion de A1492 et A1493 sans
besoin d'énergie
Perturbation du système de vérification
du code génétique au niveau
de la synthèse protéique …
J. M. Ogle et al., Science (2001) 292, 897 -902
29/10/2009
05: Ribosome-30S
21

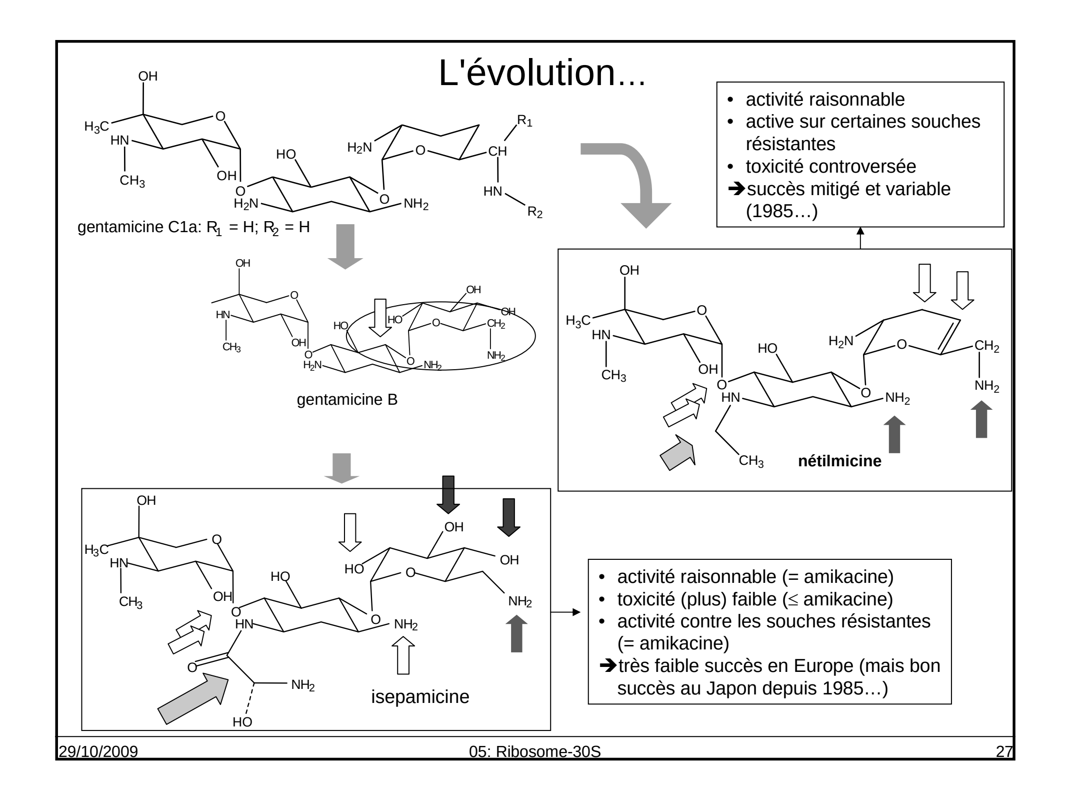

Logique du développement à partir des années '60
sucre''
sucre'
R9
R7
R8
HN
R10
O
1''
2''
OH
O
HO
HN
R6
1
3
O
NH2
R1
O
1'
R2
6'
R3
R4
R5
déoxystreptamine
29/10/2009
05: Ribosome-30S
22


Logique du développement à partir des années ‘60
kanamycine A
• activité raisonnable sur les Gram (-) SM-résistants
• toxicité modérée
➔succès clinique important (1960-1980),
grand succès clinique depuis 1965 !! "gentamicine" …
gentamicine C1 : R1 = CH3; R2 = CH3
gentamicine C1a: R1 = H; R2 = H
gentamicine C2: R1 = CH3; R2 = H
29/10/2009
05: Ribosome-30S
23


Mais … émergence rapide de résistance par inactivation enzymatique…
3'-phosphorylation
2'-acétylation
4'-adénylation
6'-acétylation
2''-adénylation
2''-phosphorylation
kanamycine B
3-acétylation
gentamicine C1 : R1 = CH3; R2 = CH3
gentamicine C1a: R1 = H; R2 = H
gentamicine C2: R1 = CH3; R2 = H
kanamycine A
29/10/2009
05: Ribosome-30S
24


L'évolution…
• plus active que la kanamycine A
• toxique …
kanamycine B
• (un peu) à moins toxique
• active sur les souches product. de 3'phosphotransférase (rares)
• plus active sur Pseudomonas
➔ gros succès clinique (1975-1995)
tobramycine
• (un peu) plus toxique
• active sur les souches product. de 3' phospho- et 4'adénylyl transféranses (rares)
• MAIS pas d'avantage sur Pseudomonas
• moins active sur Serratia
➔ très faible succès clinique (1975-1995)
dibékacine
29/10/2009
05: Ribosome-30S
25


L'évolution…
kanamycine A
• activité raisonnable
• toxicité modérée
• activité raisonnable
• toxicité (plus) faible
• activité souches résistantes (2", 3; fréquentes) et insensible en 2' (fréquent)
➔très grand succès clinique depuis les années 85
amikacine
29/10/2009
05: Ribosome-30S
26



Mécanismes de résistance

• inactivation enzymatique
  phosphorylation et adenylation des hydroxyles
  acétylation des amines

• imperméabilisation
  réduction de pénétration chez les staphylocoques
  efflux actif chez *Pseudomonas*
    (résistance croisée avec fluoroquinolones et certaines céphalosporines)

• modification de la cible par méthylation
  méthylases plasmidiques chez les entérobactéries,
  risque de dissémination rapide !

Spectre d'activité

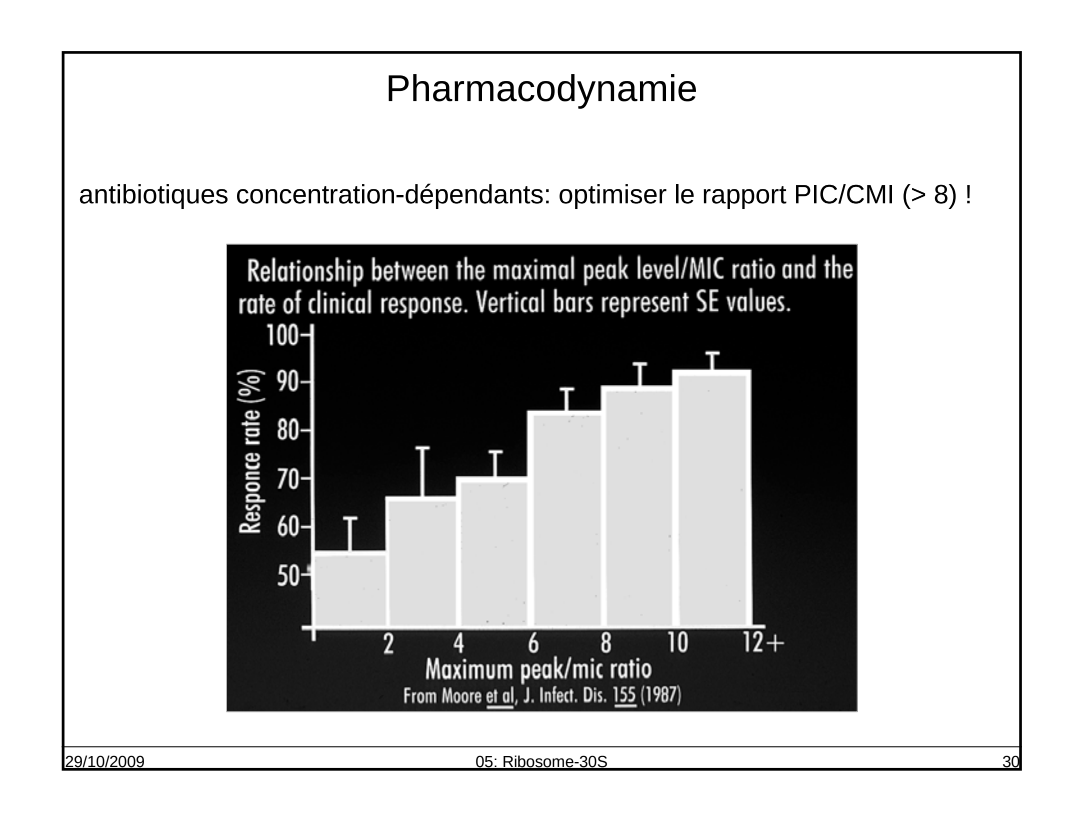
• bactéries à Gram-positif
  essentiellement, staphylocoques et entérocoques

• principalement, bactéries à Gram-negatif
  y compris *Pseudomonas* et entérobactéries

• inactifs sur les anaérobes
  entrée dans la bactérie médiée par un transporteur oxygéno-dépendant

Pharmacodynamie

antibiotiques concentration-dépendants: optimiser le rapport PIC/CMI (> 8) !



Pharmacocinétique

Pharmacodynamie !

- Absorption: nulle par voie orale (molécules polaires!)
  administration iv de préférence à im
- Distribution: dans les fluides extracellulaires (Vd ~ 0.2 L/kg)
  (non diffusibles à travers les membranes)
  accumulation de 5 % de la dose dans le rein et l'oreille
- Elimination: par voie rénale; pas de métabolisation

Toxicité !



Interactions médicamenteuses

- médicaments qui augmentent le risque de blocage neuromusculaire:
  curarisants
- médicaments qui favorisent le développement de la toxicité:
  diurétiques
  médicaments néphrotoxiques,
  dont plusieurs anti-infectieux susceptibles d'être coadministrés
  (vancomycine, céphaloridine, amphotéricine, adéfovir, …)
- médicaments présentant une incompatibilité chimique ;
  → ne pas administrer dans la même solution de perfusion
  héparine, β-lactames (et autres substances anioniques).

Indications des aminoglycosides



• premier choix : infections sévères à Gram(-) en milieu hospitalier

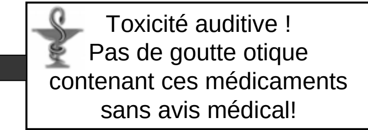
Quelques exemples :
pneumonie nosocomiale, infections abdominales ou pelviennes

• en association:

- + β-lactame (combionaison synergique): endocardite à entérocoque
- en trithérapie: tuberculose

• administration non parentérale:

- usage topique (collyre, gouttes auditives)
- voie orale: décontamination digestive

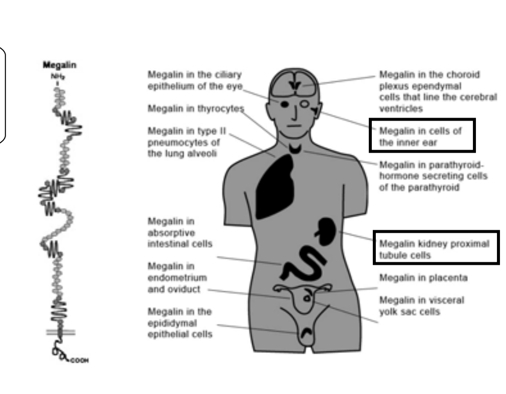


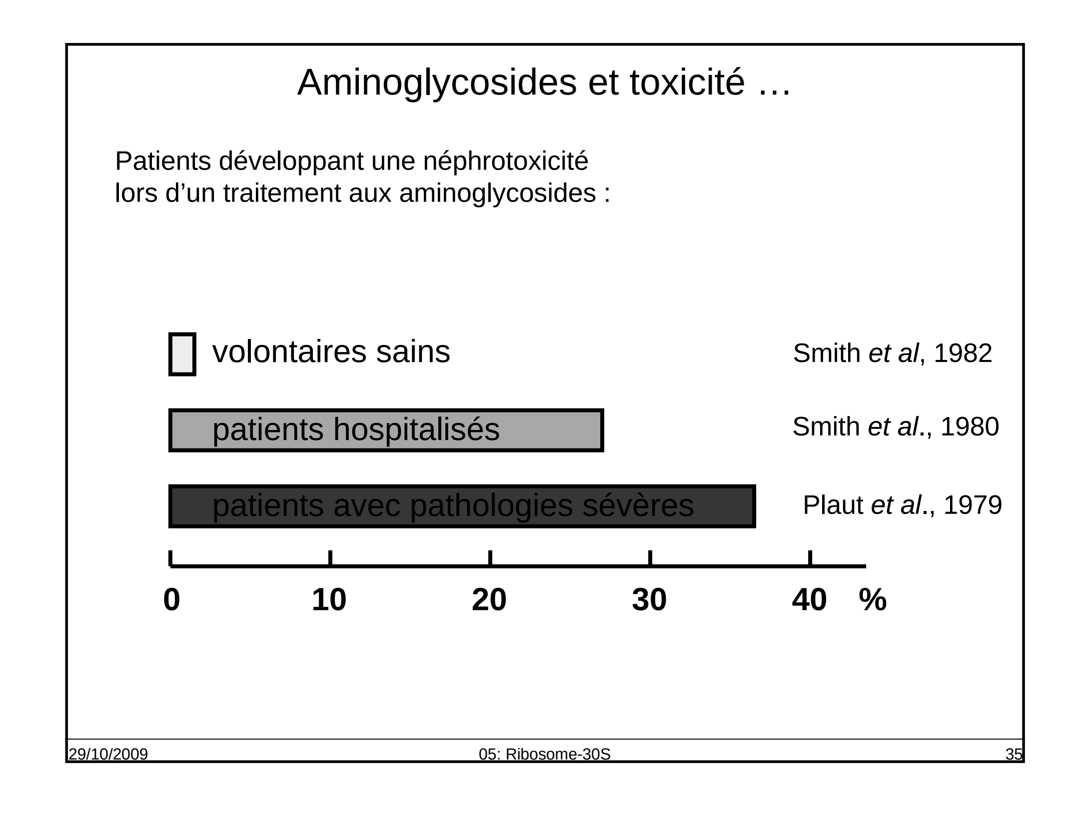
Effets secondaires

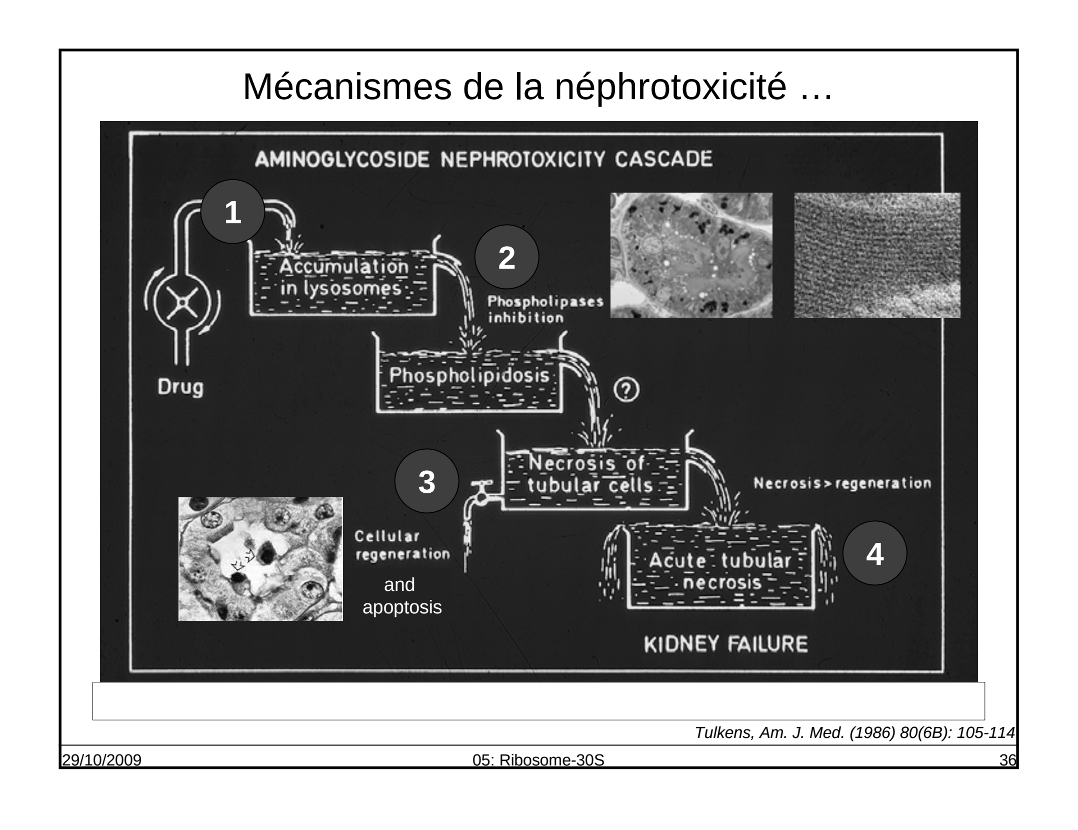
• blocage neuro-musculaire (compétition avec le Ca^{2+} dans les plaques motrices)
→ injection lente (perfusion sur 30 minutes)

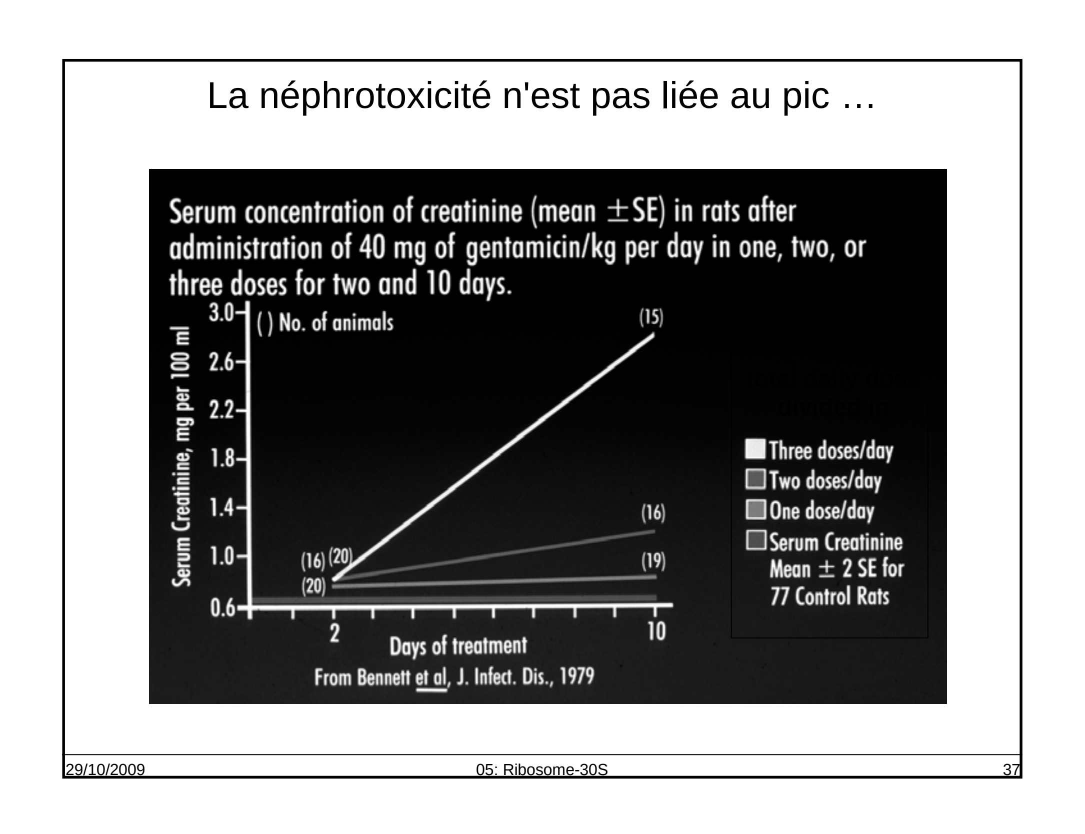
• toxicité rénale et auditive (organes ou l'accumulation est préférentielle)

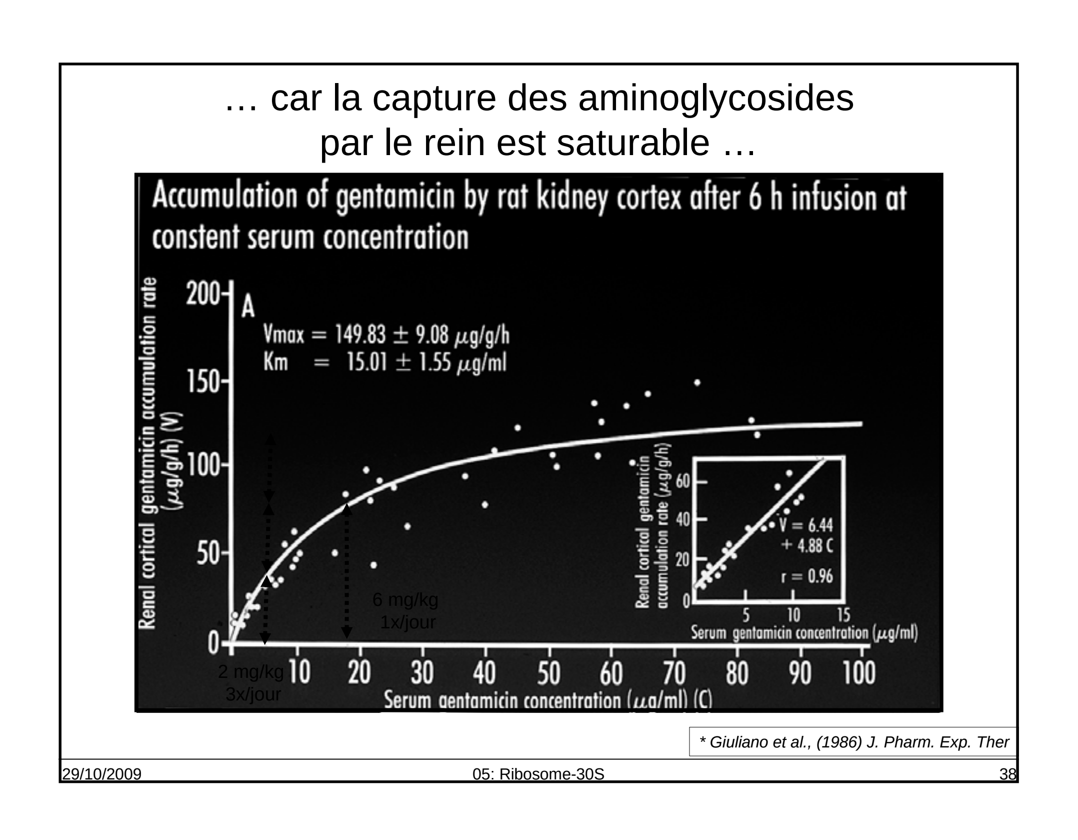
Capture par endocytose
- adsorptive (PL acides)
- récepteur-médiée (mégaline; récepteur aux composés polybasiques)

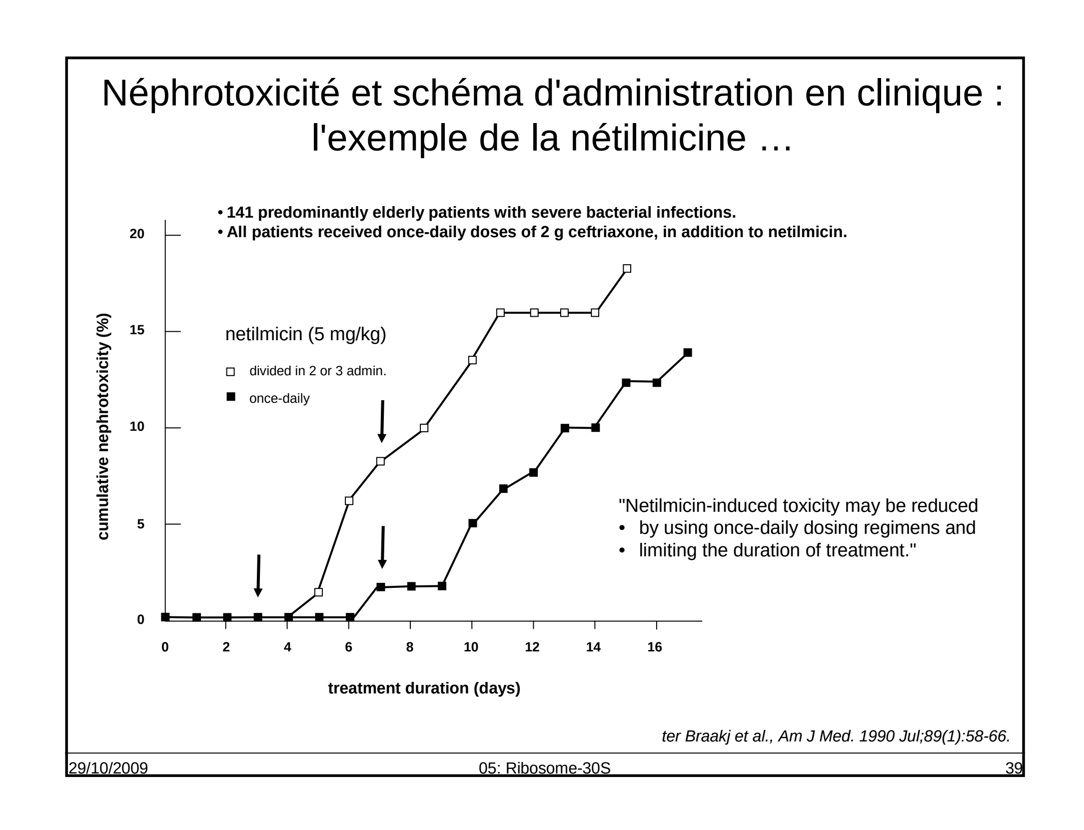



Aminoglycosides et toxicité …
Patients développant une néphrotoxicité
lors d'un traitement aux aminoglycosides :
volontaires sains
Smith et al, 1982
patients hospitalisés
Smith et al., 1980
patients avec pathologies sévères
Plaut et al., 1979
0
10
20
30
40
%
29/10/2009
05: Ribosome-30S
35


Mécanismes de la néphrotoxicité …
AMINOGLYCOSIDE NEPHROTOXICITY CASCADE
1
Accumulation in lysosomes
2
Phospholipases inhibition
Drug
Phospholipidosis
?
3
Necrosis of tubular cells
Necrosis > regeneration
Cellular regeneration
and apoptosis
4
Acute tubular necrosis
KIDNEY FAILURE
Tulkens, Am. J. Med. (1986) 80(6B): 105-114
29/10/2009
05: Ribosome-30S
36


La néphrotoxicité n'est pas liée au pic …
Serum concentration of creatinine (mean ± SE) in rats after administration of 40 mg of gentamicin/kg per day in one, two, or three doses for two and 10 days.
( ) No. of animals
Serum Creatinine, mg per 100 ml
3.0
2.6
2.2
1.8
1.4
1.0
0.6
(15)
(16)
(19)
(16) (20)
(20)
2
10
Days of treatment
Three doses/day
Two doses/day
One dose/day
Serum Creatinine Mean ± 2 SE for 77 Control Rats
From Bennett et al, J. Infect. Dis., 1979
29/10/2009
05: Ribosome-30S
37


… car la capture des aminoglycosides par le rein est saturable …
Accumulation of gentamicin by rat kidney cortex after 6 h infusion at constent serum concentration
A
Vmax = 149.83 ± 9.08 µg/g/h
Km = 15.01 ± 1.55 µg/ml
Renal cortical gentamicin accumulation rate (µg/g/h) (V)
200
150
100
50
0
6 mg/kg
1x/jour
2 mg/kg
3x/jour
10 20 30 40 50 60 70 80 90 100
Serum gentamicin concentration (µg/ml) (C)
Renal cortical gentamicin accumulation rate (µg/g/h)
60
40
20
0
V = 6.44 + 4.88 C
r = 0.96
5 10 15
Serum gentamicin concentration (µg/ml)
* Giuliano et al., (1986) J. Pharm. Exp. Ther
29/10/2009
05: Ribosome-30S
38



L'ototoxicité n'est pas davantage liée au pic …

Comparison of "once-daily" and a "divided dose" administration schemes on ototoxicity in young patients

	no. of patients [over 20 in each group] with lesions* and total no. of frequencies affected	
	low tone (0.25-8 kHz)	high tone (10-18 kHz)
amikacin		
• q24h	**1 (1)**	**3 (4)**
• q12h	**0**	**6 (6)**
netilmicin		
• q24h	**0**	**3 (7)**
• q8h	**2 (3)**	**8 (9)**

* loss of 15dB or more over baseline(max. loss recorded: 30 dB)

p < 001 by χ^2analysis

J Antimicrob Chemother. (1991) 27 Suppl C:49-61.

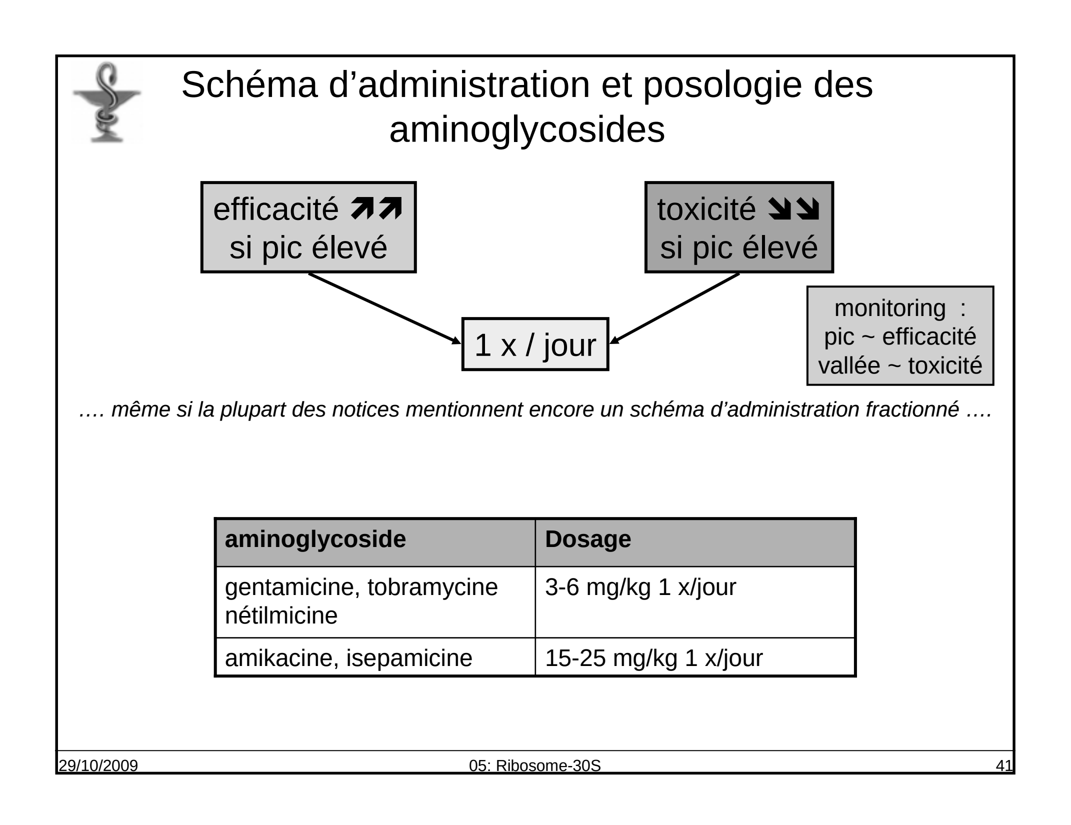
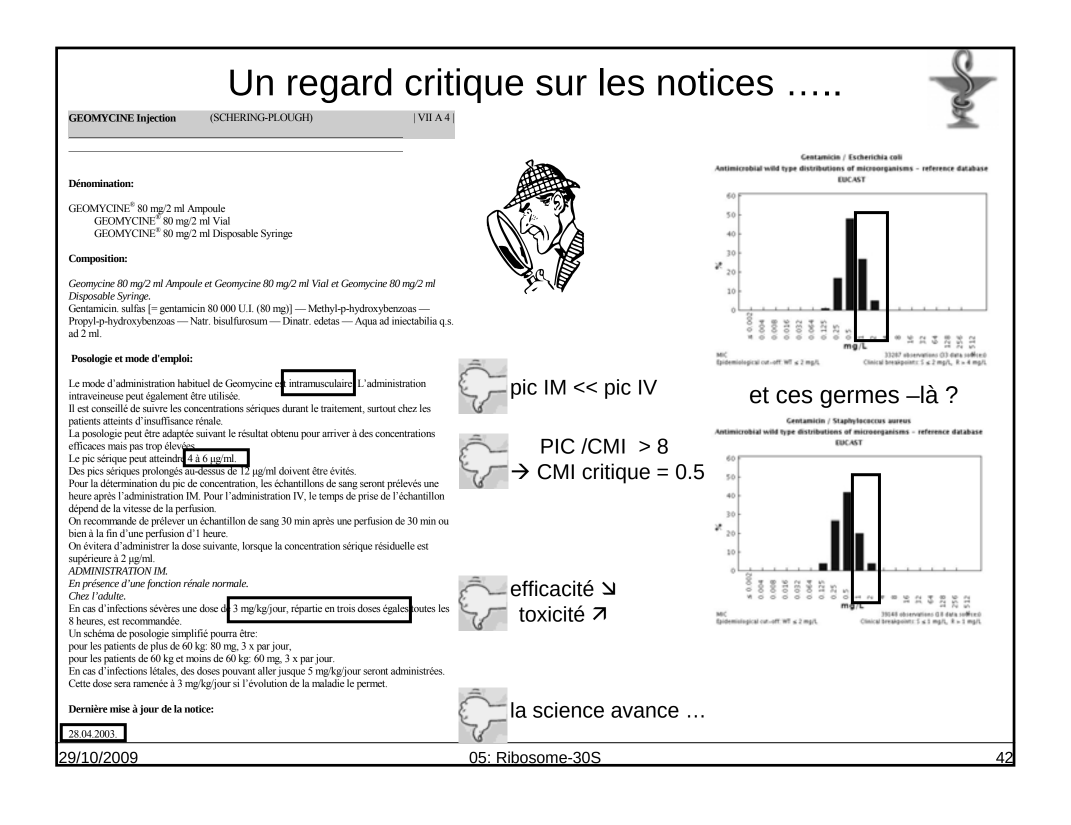
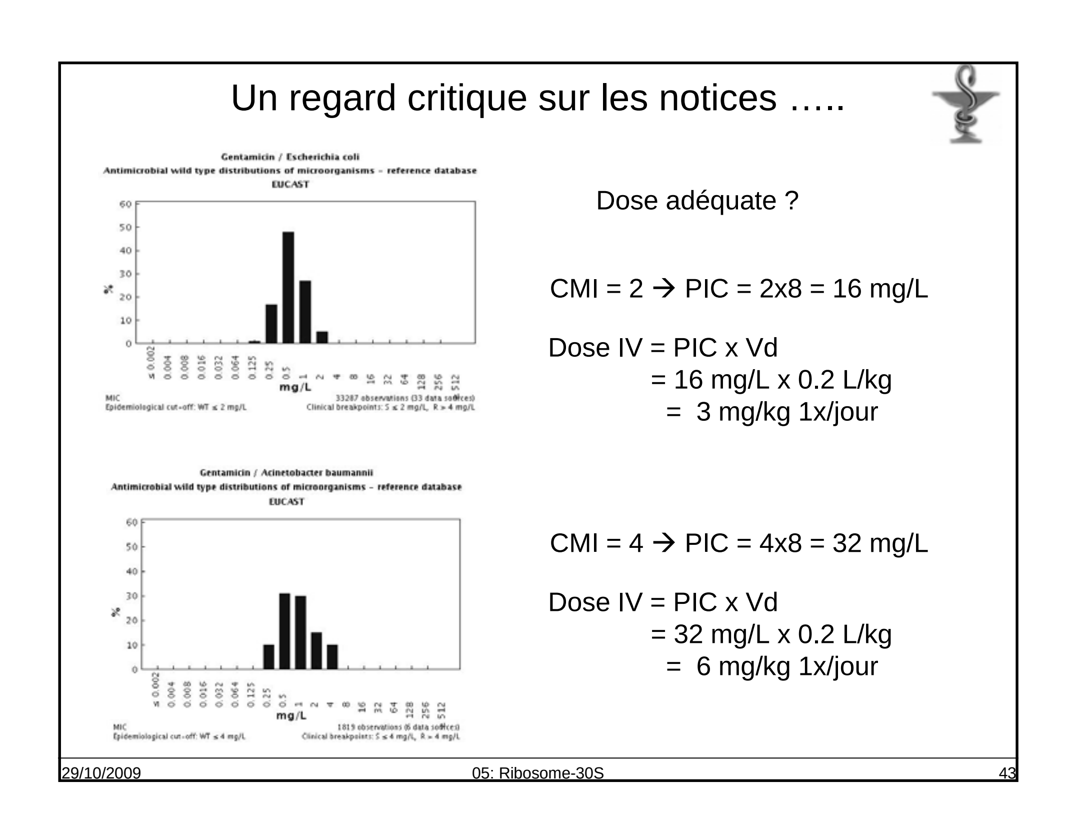


Schéma d'administration et posologie des aminoglycosides
efficacité ↗↗ si pic élevé
toxicité ↘↘ si pic élevé
1 x / jour
monitoring : pic ~ efficacité vallée ~ toxicité
…. même si la plupart des notices mentionnent encore un schéma d'administration fractionné ….
aminoglycoside | Dosage
gentamicine, tobramycine nétilmicine | 3-6 mg/kg 1 x/jour
amikacine, isepamicine | 15-25 mg/kg 1 x/jour
29/10/2009
05: Ribosome-30S
41



Un regard critique sur les notices …..
GEOMYCINE Injection (SCHERING-PLOUGH) | VII A 4 |
Dénomination:
GEOMYCINE® 80 mg/2 ml Ampoule
GEOMYCINE® 80 mg/2 ml Vial
GEOMYCINE® 80 mg/2 ml Disposable Syringe
Composition:
Geomycine 80 mg/2 ml Ampoule et Geomycine 80 mg/2 ml Vial et Geomycine 80 mg/2 ml Disposable Syringe.
Gentamicin. sulfas [= gentamicin 80 000 U.I. (80 mg)] — Methyl-p-hydroxybenzoas — Propyl-p-hydroxybenzoas — Natr. bisulfurosum — Dinatr. edetas — Aqua ad iniectabilia q.s. ad 2 ml.
Posologie et mode d'emploi:
Le mode d'administration habituel de Geomycine est intramusculaire. L'administration intraveineuse peut également être utilisée.
Il est conseillé de suivre les concentrations sériques durant le traitement, surtout chez les patients atteints d'insuffisance rénale.
La posologie peut être adaptée suivant le résultat obtenu pour arriver à des concentrations efficaces mais pas trop élevées.
Le pic sérique peut atteindre 4 à 6 µg/ml.
Des pics sériques prolongés au-dessus de 12 µg/ml doivent être évités.
Pour la détermination du pic de concentration, les échantillons de sang seront prélevés une heure après l'administration IM. Pour l'administration IV, le temps de prise de l'échantillon dépend de la vitesse de la perfusion.
On recommande de prélever un échantillon de sang 30 min après une perfusion de 30 min ou bien à la fin d'une perfusion d'1 heure.
On évitera d'administrer la dose suivante, lorsque la concentration sérique résiduelle est supérieure à 2 µg/ml.
ADMINISTRATION IM.
En présence d'une fonction rénale normale.
Chez l'adulte.
En cas d'infections sévères une dose de 3 mg/kg/jour, répartie en trois doses égales toutes les 8 heures, est recommandée.
Un schéma de posologie simplifié pourra être:
pour les patients de plus de 60 kg: 80 mg, 3 x par jour,
pour les patients de 60 kg et moins de 60 kg: 60 mg, 3 x par jour.
En cas d'infections létales, des doses pouvant aller jusque 5 mg/kg/jour seront administrées. Cette dose sera ramenée à 3 mg/kg/jour si l'évolution de la maladie le permet.
Dernière mise à jour de la notice:
28.04.2003.
pic IM << pic IV
PIC /CMI > 8
→ CMI critique = 0.5
efficacité ↘
toxicité ↗
la science avance …
Gentamicin / Escherichia coli
EUCAST
et ces germes –là ?
Gentamicin / Staphylococcus aureus
EUCAST
29/10/2009
05: Ribosome-30S
42



Un regard critique sur les notices …..
Gentamicin / Escherichia coli
Antimicrobial wild type distributions of microorganisms – reference database
EUCAST
%
mg/L
MIC
Epidemiological cut-off: WT ≤ 2 mg/L
33287 observations (33 data sources)
Clinical breakpoints: S ≤ 2 mg/L, R > 4 mg/L
Dose adéquate ?
CMI = 2 → PIC = 2x8 = 16 mg/L
Dose IV = PIC x Vd
= 16 mg/L x 0.2 L/kg
= 3 mg/kg 1x/jour
Gentamicin / Acinetobacter baumannii
Antimicrobial wild type distributions of microorganisms – reference database
EUCAST
%
mg/L
MIC
Epidemiological cut-off: WT ≤ 4 mg/L
1819 observations (6 data sources)
Clinical breakpoints: S ≤ 4 mg/L, R > 4 mg/L
CMI = 4 → PIC = 4x8 = 32 mg/L
Dose IV = PIC x Vd
= 32 mg/L x 0.2 L/kg
= 6 mg/kg 1x/jour
29/10/2009
05: Ribosome-30S
43